



# Molecular Mechanisms of Development of Serotonergic Neurons in the Sea Urchin Embryo

著者	谷口 順子
その他のタイトル	ウニ胚セロトニン神経形成を司る分子メカニズムの解析
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2013
報告番号	12102甲第6906号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/00122460">http://hdl.handle.net/2241/00122460</a>

氏名（本籍）	谷口 順子 （ 静岡県 ）		
学位の種類	博 士（ 理学 ）		
学位記番号	博 甲 第 6906 号		
学位授与年月日	平成26年 3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Molecular Mechanisms of Development of Serotonergic Neurons in the Sea Urchin Embryo (ウニ胚セロトニン神経形成を司る分子メカニズムの解析)		
主査	筑波大学教授	理学博士	稲葉 一男
副査	筑波大学教授	博士（理学）	和田 洋
副査	筑波大学教授	理学博士	沼田 治
副査	筑波大学准教授	博士（理学）	笹倉 靖徳

## 論 文 の 要 旨

本学位論文では、棘皮動物ウニ初期胚の前端部神経外胚葉において頂毛の反対側に分化するセロトニン神経の形成メカニズムの解析を行い、ウニ胚神経外胚葉に存在する様々な細胞種の分化経路を遺伝子レベルで明らかにした。

まず、Zinc finger homeobox1 (Zfhx1) 遺伝子について解析を行った。本遺伝子はウニ胚前端部で発現することが知られていたが、その詳細な発現パターンや機能についてはこれまで報告されていなかった。その発現パターンの詳細な解析として、セロトニン合成酵素(*tph*)との2重 *in situ hybridization*を行ったところ、*zfhx1*はセロトニン神経前駆細胞に発現することを明らかにした。*zfhx1*の個々の細胞での発現は非常に早く、原腸胚期には確認された。現在のところ *zfhx1*はこれまでに報告されているウニ胚セロトニン神経前駆細胞に特異的に発現する因子の中で最も早期に発現することから、未分化な細胞が神経細胞へと分化していく過程の最初の鍵となる因子の可能性が示唆された。次に、Zfhx1 に対するモルフォリノアンチセンスオリゴを用いてその機能抑制を行ったところ、Zfhx1 はセロトニン神経形成に必要な因子であることが明らかになった。セロトニン神経は前端部神経外胚葉の背側に発現し、また、神経同士が隣り合わないことから、これまでも腹側において発現が見られる Nodal や側方抑制を担う Notch シグナルによる抑制を受けていることが示唆されていたが、本研究では *zfhx1* の発現がそれらの抑制シグナルのターゲットであることを示した。さらに Zfhx1 は前端部神経外胚葉領域決定因子である FoxQ2 の下流因子であることも明らかにした。

マイクロアレイを用いた解析結果から、Six3が神経外胚葉領域に発現する多数の因子を調節していることが示唆された。本研究ではその下流因子であるHbnの発現および機能解析を行ったところ、*hbn*の発現領域は発生早い段階では前端部神経外胚葉に広く発現するが、発生に伴って背側にシフトすることがわかった。*hbn*の背側へのシフトにはNodalによる抑制が関与しており、最終的には神経外胚葉の背側境界よりもさらに外側にその発現はシフトしていった。Hbnに対するモルフォリノアンチセンスオリゴを用いてその機能を抑制したところ、セロトニン神経形成が阻害され、*zfhx1*の発現も消失した。Six3が

セロトニン神経形成に必要な因子であることがすでに報告されていたが、本研究でその下流のHbnがセロトニン神経の分化に必要であることを示した。一方、Hbnと神経外胚葉特異的因子であるFoxQ2はお互いの発現に影響を与えないことから、それぞれ独立した経路でセロトニン神経分化に関与していることが示唆された。

以上、本研究で対象とした Zfhx1 および Hbn はどちらも前端部神経外胚葉に特徴的なセロトニン神経形成に必須の因子であることが明らかとなった。ウニ胚前端部神経外胚葉は脊椎動物の脳などと比較すると非常に少ない細胞数で成り立っているが、その中での遺伝子発現や細胞種は複雑なパターンを示すことがより明確となった。また、その際にそれぞれの遺伝子発現を制御するシステムは Nodal や BMP2/4 といった神経外胚葉以外の外胚葉で分泌される因子の影響を強く受けていることも本研究から明らかになった。これは、TGF- $\beta$  ファミリーのメンバーを含む分泌性のシグナル分子が神経外胚葉の形成およびパターンニングに関与しているという左右相称動物共通のメカニズムを棘皮動物であるウニの胚も保持していることを示している。

## 審 査 の 要 旨

ウニ胚は系統進化的に新口および旧口動物の共通祖先に近いところから分岐しており、操作が容易で大量の胚を得ることが可能である点など、実験生物学的にも哺乳類を含む脊椎動物の中樞神経系の成り立ちを知る上で重要な知見を与える。本研究ではこれらの研究上の利点を十分に生かし、ウニ初期胚の前端部神経外胚葉に形成されるセロトニン神経の分化メカニズムの解析を目的とした。まず、ウニ胚を用いてセロトニン神経形成に必須となる因子である Zinc finger homeobox1 (Zfhx1) および Homeobrain (Hbn) の発現解析を行い、これらが神経外胚葉におけるセロトニン神経の分化に必須であることを明らかにした。さらに、前者が未分化な細胞が神経細胞へと分化していく過程の最初の鍵となる因子の可能性が高いこと、後者が神経外胚葉特異的因子である FoxQ2 とは独立の経路でセロトニン神経分化に関与していることを示した。また、神経外胚葉以外の外胚葉で分泌される因子である Nodal や BMP2/4 が神経外胚葉のパターン化に深く関与していることも明らかにした。以上、本研究は進化の過程で TGF- $\beta$  ファミリーがどのように神経形成を担う転写因子群の発現制御に影響を与え、神経外胚葉のパターンニングに寄与するようになったかを考える上で重要な知見を与え、新規かつ極めて重要な研究成果である。

平成26年1月28日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。